

# بررسی تاثیر محرومیت از تیمار مادری بر القای LTP در نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی وابسته مورفین

فاطمه عقیقی (MSc)، مژگان محمدی‌فر (MSc)، محمود سلامی (PhD)، غلامعلی حمیدی (PhD)، سید علیرضا طلائی (PhD)\*

۱- مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

دریافت: ۹۶/۱۱/۲۲، اصلاح: ۹۷/۲/۳۱، پذیرش: ۹۷/۳/۵

## خلاصه

**سابقه و هدف:** محرومیت از تیمار مادری به‌عنوان یک عامل استرس‌زا باعث اختلال در فعالیت‌های شناختی و نوروشیمیایی مغز می‌شود. این مطالعه به منظور بررسی تاثیر محرومیت از تیمار مادری بر القای LTP در نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی وابسته به مورفین انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی روی ۴۰ سر موش صحرایی نر ۴۵ روزه در گروه‌های کنترل، وابسته به مورفین و ۳ گروه از موش‌هایی که طی یک، دو و سه هفته اول پس از تولد روزانه ۳ ساعت از تیمار مادری محروم بودند، انجام شد. به‌جز گروه کنترل بقیه گروه‌ها هر ۱۲ ساعت یک‌بار ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن مورفین سولفات به‌صورت زیرپوستی به‌مدت ۱۰ روز گرفتند. در روز یازدهم علائم سندروم محرومیت باروش Gellert-Holtzman بررسی شد و در روز بعد شکل‌پذیری سیناپسی نورون‌های ناحیه CA1 بررسی گردید.

**یافته‌ها:** نمره Gellert-Holtzman در گروه وابسته به مورفین  $14 \pm 9.8/16$  بود و تا  $31 \pm 7.9/12$  در گروهی که ۳ هفته از تیمار مادری محروم بودند، افزایش یافت ( $p < 0.001$ ). اگرچه وابستگی به مورفین بر پاسخ‌های پایه ثبت شده از نورون‌های ناحیه CA1 و القای LTP در آنها تاثیری نداشت، اما محرومیت از تیمار مادری به‌صورت وابسته به زمان باعث کاهش اندازه دامنه پاسخ‌های پایه از  $1.0 \pm 0.4$  در گروه وابسته به مورفین تا  $0.68 \pm 0.09$  میلی‌ولت در گروهی که ۳ هفته از تیمار مادری محروم بودند ( $p < 0.001$ ) شده و مانع القای LTP در آنها شد ( $p < 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که محرومیت از تیمار مادری باعث تضعیف پتانسیل‌های پس‌سیناپسی میدانی ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ متعاقب مصرف مورفین شده و نیز شکل‌پذیری سیناپسی نورون‌های این ناحیه را مختل می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** مورفین، محرومیت از تیمار مادری، تقویت درازمدت، هیپوکامپ، موش صحرایی.

## مقدمه

اعتیاد نظیر تحمل و وابستگی می‌شود (۷). اگرچه داروهای اپیوئیدی به‌صورت بالینی به‌عنوان عوامل ضددرد استفاده می‌شوند، اما به شدت اعتیادآور بوده و مصرف مکرر آنها فعالیت مدارهای نورونی و شکل‌پذیری آنها در نواحی مختلف سیستم عصبی از جمله ناحیه هیپوکامپ را دستخوش تغییر قرار می‌دهد (۸). نقش هیپوکامپ در روندهای شکل‌گیری حافظه کلیدی است و برای مراحل اولیه یادگیری به کارکرد آن نیاز حتمی وجود دارد (۹). تقویت درازمدت (Long term potentiation; LTP) پدیده‌ای است که به‌طور گسترده بررسی شده و امروزه به‌عنوان یک مکانیسم سیناپسی کلیدی در تشکیل حافظه شناخته می‌شود (۱۰). در برخی مطالعات بیان شده که تجویز دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین به‌مدت ۷ روز باعث تضعیف شکل‌پذیری سیناپسی در ناحیه CA1 موش صحرایی می‌شود (۱۱). همچنین نشان داده شده است که مصرف مزمن مورفین (دو هفته) باعث کاهش بیان ژن‌های MAPK و CamKII -درگیر در LTP- در ناحیه هیپوکامپ موش می‌شود (۱۲). به‌دلیل نقشی که هیپوکامپ در فرآیندهای یادگیری و حافظه

محرومیت از تیمار مادری، حتی برای دوره‌های کوتاه‌مدت (۱)، چه در نمونه‌های انسانی و چه در مدل‌های حیوانی به‌عنوان یک عامل استرس‌زا محسوب شده و منجر به ایجاد اختلال در فعالیت‌های شناختی و نوروشیمیایی می‌شود (۲). نشان داده شده است که محرومیت از تیمار مادری بین روزهای ۵ تا ۹ پس از تولد روزانه به‌مدت ۸ ساعت باعث ایجاد اختلال در یادگیری ترجیح مکان شرطی در موش‌های صحرایی بالغ می‌شود (۳). مواجه شدن با عوامل استرس‌زا در ابتدای تولد باعث ایجاد تغییرات در فعالیت سیستم دوپامینی ناحیه مزولیمبیک مغز شده که خود می‌تواند تمایل به مواد مخدر را تغییر دهد (۴). به‌علاوه بیان شده که محرومیت از تیمار مادری باعث افزایش فعالیت محور HPA و تولید کورتیکوسترون در فرزندان شده که نتیجه آن افزایش رفتارهای پرخطر است (۵). در سطح مولکولی نیز محرومیت از تیمار مادری باعث کاهش بیان BDNF و زیرواحدهای NR2A و NR2B گیرنده NMDA در هیپوکامپ می‌شود (۶). مصرف مواد اعتیادآور نیز سبب ایجاد تغییرات پایدار در مغز شده که در نهایت منجر به بروز جنبه‌های رفتاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۹۶۱۵۹ دانشگاه علوم پزشکی کاشان می‌باشد.

\* مسئول مقاله: دکتر سید علیرضا طلائی

آدرس: کاشان، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی. تلفن: ۵۵۶۲۱۱۵۷-۳۱

در مختصات ( $AP = -3.4 \text{ mm}$ ,  $LR = 2.5 \text{ mm}$ ,  $D = 2.5 \text{ mm}$ ) روی دندرت نورون‌های ناحیه CA1 قرار گرفت. الکترودها از جنس استیل زنگ‌نزن با پوشش تفلون و قطر  $0.05 \text{ mm}$  (A-M Systems USA) اینج (A-M Systems USA) بودند. با اعمال Paired Pulse صحت محل الکترودها مورد بررسی قرار گرفت. بلندتر بودن حداقل ۲۰ درصدی دامنه دومین پاسخ نسبت به دامنه پاسخ اول نشان از درستی محل قرارگیری الکترودهای پایدار و تحریکی داشت. در پاسخ به تحریک نورون‌های انتورینال کورتکس، پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی (Excitatory Post Synaptic Potential: EPSP) توسط سیستم eLab و نرم‌افزار eProbe 5.71 (پرتودانش، ایران) ثبت شدند. ابتدا منحنی Input/Output رسم شد و شدتی از تحریک که در آن ۶۰ درصد حداکثر دامنه پاسخ به‌دست می‌آمد، به‌عنوان شدت تحریک برای ادامه آزمایش انتخاب شد. تحریکات با فرکانس  $0.1 \text{ Hz}$ ، مدت ۱۰۰ میلی‌ثانیه و با تاخیر ۵ هزارم ثانیه اعمال گردید. سپس، به‌مدت ۳۰ دقیقه EPSP ثبت شد. برای القای LTP، تحریک تتانیک با فرکانس بالا (High Frequency Stimulation: HFS) اعمال شد. الگوی این تحریک ۱۰ قطار شامل ۱۰ تحریک با فرکانس ۲۰۰ هرتز و فاصله ۲ هزارم ثانیه بود. مدت زمان هر پالس تحریکی نیز  $0.1 \text{ ms}$  هزارم ثانیه بود. پس از تحریک تتانیک روند تحریک و ثبت به‌مدت ۲ ساعت ادامه یافت (۲۰). به‌منظور مقایسه گروه‌ها، درصد تغییر دامنه پاسخ‌ها بر حسب میلی‌ولت قبل و بعد از اعمال تحریک تتانیک مورد ارزیابی قرار گرفت. افزایش حداقل ۲۰ درصد در دامنه پاسخ‌ها پس از تحریک تتانیک به‌عنوان معیار وقوع LTP در نظر گرفته شد (۲۱). داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA دوطرفه به‌همراه پس‌آزمون Tukey آنالیز شده و  $p < 0.05$  معنی‌دار تلقی گردید.

### یافته‌ها

در این مطالعه بررسی علائم محرومیت نشان داد که دریافت مورفین توسط موش‌های صحرانی باعث وابستگی آنها شده است. بررسی داده‌ها نشان داد که رابطه شدت علائم سندروم محرومیت با میزان محرومیت از تیمار مادری ارتباط مستقیم داشت، یعنی نمره Gellert-Holtzman در موش‌هایی که از تیمار مادری طبیعی طی دوران شیردهی برخوردار بوده و در بلوغ مورفین دریافت کرده بودند،  $16/4 \pm 98/4$  بود و محرومیت از تیمار مادری به‌صورت وابسته به زمان باعث افزایش میانگین نمره تا  $12/5 \pm 79/3$  در موش‌های گروه MS3 شد. پس‌آزمون نشان داد اختلاف بین گروه‌های MS2 و MS3 با MD معنی‌دار است ( $p < 0.001$ ، نمودار ۱). آنالیز داده‌ها نشان داد که دریافت مورفین توسط موش‌های صحرانی باعث ایجاد تغییر معنی‌داری در میانگین دامنه پاسخ‌های پایه نمی‌شود. و این در حالی است که دریافت مورفین توسط حیواناتی که دوره‌های مختلف محرومیت از تیمار مادری را تجربه کرده بودند، به‌صورت وابسته به زمان باعث می‌شود دامنه پاسخ‌های پایه آنها به‌طور معنی‌داری کاهش یابد. میانگین دامنه پاسخ‌ها در حیوانات گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده مورفین به‌ترتیب  $0.3 \pm 0.6/1$  و  $0.4 \pm 0.1/1$  میلی‌ولت بود و محرومیت از تیمار مادری برای مدت‌های ۱، ۲ و ۳ هفته باعث شده است که میانگین دامنه به‌ترتیب تا  $0.4 \pm 0.79/0$ ،  $0.6 \pm 0.6/0$  و  $0.9 \pm 0.68/0$  میلی‌ولت ( $p < 0.001$ ) اختلاف با گروه‌های کنترل و وابسته به مورفین کاهش یابد (نمودار ۲).

داشته و نیز ارتباط دو طرفه‌ای که بین این ناحیه و مدارهای درگیر در پاداش وجود دارد، بررسی تأثیرات مورفین بر شکل‌پذیری سیناپسی مدارهای نورونی ناحیه هیپوکامپ ضروری به‌نظر می‌رسد (۱۴ و ۱۸). با توجه به اینکه محرومیت از تیمار مادری می‌تواند با تغییر در فعالیت محور HPA بر بلوغ و فعالیت مدارهای نواحی مختلف مغزی تأثیر بگذارد و از طرف دیگر نشان داده شده که مصرف مواد مخدر نیز می‌تواند بر فعالیت نورون‌های ناحیه هیپوکامپ تأثیر بگذارد، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر محرومیت از تیمار مادری بر القای تقویت درازمدت (LTP) در نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرانی وابسته به مورفین می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

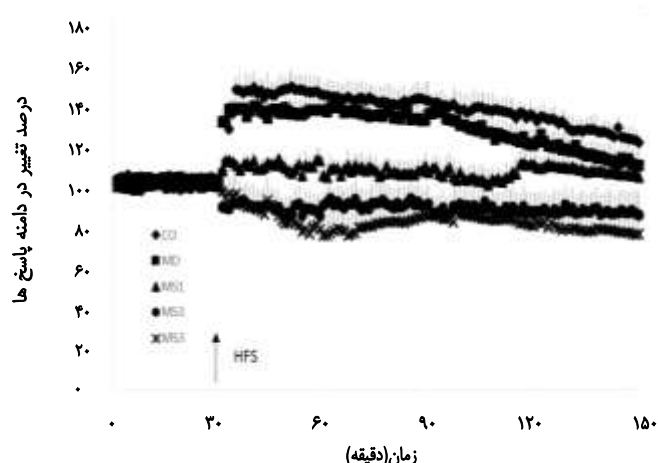
این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان با کد IR.KAUMS.MEDNT.REC. ۱۳۹۶.۸۱ روی ۴۰ سر موش صحرانی نر نژاد ویستار ۴۵ روزه با وزن ۱۲۰ تا ۱۴۰ گرم انجام شد. حیوانات در مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کاشان با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت  $55 \pm 5$  درصد و سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شده و دسترسی آزادانه به آب و مواد غذایی داشتند.

موش‌های صحرانی در ۵ گروه ۸ تایی گروه کنترل (CO)، و گروه‌های وابسته به مورفین (Morphine dependent; MD) و محرومیت از تیمار مادری برای مدت‌های ۱ هفته (Maternal separation; MS1)، ۲ هفته (MS2) و ۳ هفته پس از تولد (MS3) وارد شدند. مدل محرومیت از تیمار مادری (۱۵) بدین‌صورت بود که هر روز راس ساعت ۱۰ صبح موش مادر از قفس خارج شده و ساعت ۱۳ به قفس برگردانده می‌شد و در این فاصله، قفس نوزادان در یک محفظه با دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت. کلیه حیوانات روز بیست و دوم پس از تولد از شیر گرفته شدند. پس از رسیدن به سن ۴۵ روزه‌گی که مقارن با دوره بلوغ مغزی است (۱۶ و ۱۷)، همه حیوانات به غیر از گروه کنترل، به‌مدت ۱۰ روز هر ۱۲ ساعت یک‌بار، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مورفین سولفات (تماد، ایران) به‌صورت زیرپوستی دریافت کردند و در روز دهم علائم سندروم محرومیت از مورفین در آنها بررسی شد: ۲ ساعت پس از دریافت مورفین، ابتدا ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم نالوکسان هیدروکلراید (تولیددارو، ایران) به‌صورت درون‌صفافی به حیوانات تزریق شده و بلافاصله به یک محفظه پلکسی‌گلاس به قطر ۳۰ و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر منتقل شدند. علائم محرومیت براساس مدل تعدیل شده Gellert-Holtzman (۱۸) به‌مدت ۳۰ دقیقه بررسی و امتیازدهی شد. این علائم عبارتند از:

الف- علائم درجه‌بندی شده (از دست دادن وزن طی ۲۴ ساعت پس از تزریق، تعداد پرش، انقباضات شکمی و تکان دادن بدن مثل سگ خیس)؛

ب- علائم چک‌شده (اسهال، دندان‌سائیدن، افتادگی پلک، کشیدگی تمام بدن، لیسیدن آلت تناسلی و بی‌قراری).

در روز بعد و نیم ساعت قبل از انجام آزمایش، موش‌ها به‌واسطه تزریق داخل-صفافی یورتان ( $1/5$  گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. پس از ثابت نمودن سر حیوان در دستگاه استریوتاکس (Stoelting USA) محل قرارگیری الکترودها به‌وسیله اطلس Paxinos و Watson (۱۹) روی مجسمه مشخص شد. الکترودها تحریکی در مختصات ( $AP = -4.2 \text{ mm}$ ,  $LR = 3.8 \text{ mm}$ ,  $D = 2.4 \text{ mm}$ ) در محل اکسون نورون‌های ناحیه انتورینال کورتکس و الکترودهای

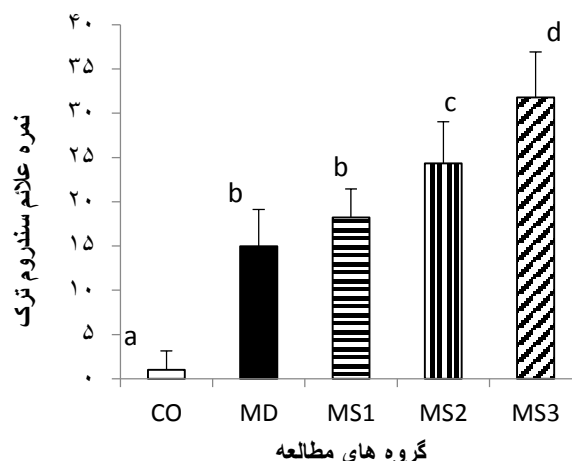


نمودار ۳. القای LTP در نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی. پس از القای LTP تنها در گروه‌های CO و MD القا شد. محرومیت از تیمار مادری به‌صورت وابسته به زمان باعث شد دریافت مورفین مانع از القای LTP در نورون‌های ناحیه هیپوکامپ موش‌های صحرایی شود. ( $p < 0.01$ ) اختلاف میانگین دامنه پاسخ‌ها بعد از القای LTP بین گروه‌های CO و MD با هر سه گروه محروم از تیمار مادری. ( $P < 0.05$ ) اختلاف میانگین دامنه پاسخ‌ها بعد از القای LTP بین گروه MS1 با گروه‌های MS2 و MS3.

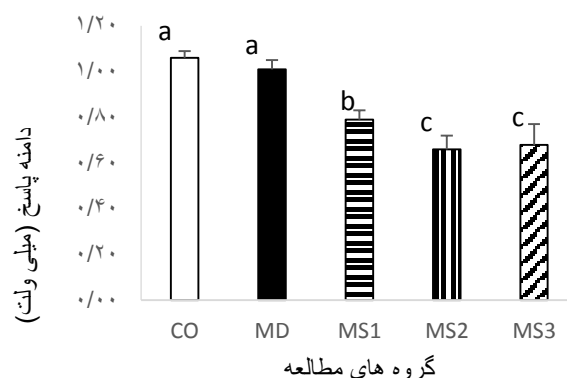
### بحث و نتیجه گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که محرومیت از تیمار مادری در دوره شیرخوارگی به‌صورت وابسته به زمان باعث می‌شود پس از مواجهه موش‌های صحرایی با مورفین در دوران بلوغ، وابستگی آنها بیشتر شود. همچنین، نتایج نشان داد که وابسته شدن موش‌های صحرایی به مورفین اگرچه به‌خودی خود تاثیری بر دامنه پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی ثبت شده از نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ ندارد، اما داشتن سابقه محرومیت از تیمار مادری باعث می‌شود از دامنه پاسخ‌ها کاسته شده و هرچه مدت زمان محرومیت بیشتر شود، از دامنه پاسخ بیشتر کاسته می‌شود.

به‌علاوه، نتایج نشان دادند که وابسته شدن به مورفین اگرچه مانع از القای LTP در این مدارهای نورونی نمی‌شود، اما پایداری آن در طول زمان را به حدود نصف کاهش داده و نیز محروم شدن از تیمار مادری به‌صورت وابسته به زمان هم مانع از القای LTP در مدارهای ناحیه CA1 هیپوکامپ شده و حتی می‌تواند باعث القای LTD نیز شود. محرومیت از تیمار مادری به‌عنوان یک عامل استرس‌زا محسوب شده و منجر به ایجاد اختلال در فعالیت‌های شناختی و نوروشیمیایی می‌شود (۲). مواجه شدن با عوامل استرس‌زا در ابتدای تولد باعث ایجاد تغییرات در فعالیت سیستم دوپامینی ناحیه مزولیمبیک مغز شده که خود می‌تواند تمایل به مواد مخدر را تغییر دهد (۴). به‌علاوه بیان شده است که محرومیت از تیمار مادری باعث افزایش فعالیت محور HPA و تولید کورتیزول در فرزندان شده که نتیجه آن افزایش رفتارهای پرخطر است (۵). محرومیت از تیمار مادری همچنین می‌تواند باعث ایجاد اختلال در سیستم‌های پاداشی مغز برای دریافت مواد محرک و روانگردان شود (۲۲). به دلیل نقشی که هیپوکامپ در فرآیندهای یادگیری و حافظه داشته و نیز ارتباط دوطرفه‌ای که بین این ناحیه و مدارهای درگیر در پاداش وجود دارد، بررسی تاثیرات مورفین بر شکل‌پذیری سیناپسی مدارهای نورونی ناحیه



نمودار ۱. مقایسه میانگین نمره علام سندروم محرومیت از مورفین بر اساس روش تعدیل شده Gellert-Holtzman در گروه‌های مختلف مطالعه



نمودار ۲. میانگین دامنه پتانسیل‌های پس‌سیناپسی ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ حیوانات گروه‌های مختلف مطالعه. اگرچه مصرف مورفین باعث ایجاد تغییر معنی‌داری در دامنه پاسخ‌ها نشده، اما محرومیت از تیمار مادری باعث شد مورفین اثر کاهنده بر دامنه پاسخ‌ها داشته باشد.

القای LTP به‌ترتیب منجر به افزایش حدوداً ۴۵ و ۳۵ درصدی در دامنه EPSPهای ثبت شده از حیوانات گروه‌های CO و MD گردید (نمودار ۳). با توجه به معیار ۲۰ درصدی افزایش دامنه پاسخ‌ها برای در نظر گرفتن القای LTP تا پایان ۲ ساعت در گروه CO و تا حدود ۱ ساعت در گروه MD ماندگار بود. بااین‌همه، اختلاف بین دامنه بعد از القای LTP در گروه‌های CO و MD معنی‌دار نبود. اعمال تحریک تتانیک به مدارهای ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی که دوره‌های مختلف محرومیت از تیمار مادری را تجربه کرده بودند، نه‌تنها نتوانست باعث القای LTP شود، که در گروه‌های MS2 و MS3 باعث کاهش میانگین دامنه پاسخ‌ها نیز شد.

نتایج پس‌آزمون نشان داد که اختلاف میانگین دامنه پاسخ‌ها بعد از القای LTP بین گروه‌های CO و MD با هر سه گروه محروم از تیمار مادری معنی‌دار است ( $p < 0.01$ ). همچنین، اختلاف میانگین دامنه پاسخ‌ها بعد از القای LTP بین گروه MS1 با گروه‌های MS2 و MS3 معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).

داده شده که محرومیت از مادری باعث کاهش بیان پروتئین BDNF (پروتئین دارای نقش اساسی در حیات و سلامت نورون‌ها) و زیرواحدهای NR2A و NR2B گیرنده NMDA در ناحیه هیپوکامپ می‌شود (۶). Sousa و همکاران بیان کرده‌اند که محرومیت از تیمار مادری طی روزهای دوم تا چهاردهم بعد از تولد باعث می‌شود سطح کورتیکوسترون پلاسما در موش‌های صحرانی بالغ ۷۰ هفته‌ای به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بوده و شکل‌پذیری سیناپسی نورن‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ دچار اختلال شود (۳۰).

در یک مطالعه دیگر نشان داده شده است که محرومیت از تیمار مادری طی روزهای دوم تا نهم و چهارم تا بیست و یکم پس از تولد باعث می‌شود شکل‌پذیری سیناپسی نورون‌های ناحیه CA1 موش‌های صحرانی ۴۰ تا ۵۰ روزه کاهش یابد (۳۱). Shin و همکاران نیز نشان داده‌اند که محرومیت از تیمار مادری از روزهای دوم تا بیستم پس از تولد باعث می‌شود القای LTP در مسیر فیبرهای خزه‌ای به CA3، هیپوکامپ موش سوری دچار اختلال شود (۳۲). با توجه به اینکه گیرنده‌های کورتیکوستروئید و اپیوئید هر دو در ناحیه هیپوکامپ بیان می‌شوند، این احتمال می‌رود که محرومیت از تیمار مادری از طریق افزایش کورتیکوستروئید در گردش اثر تخریبی اپیوئیدها بر نورون‌های این ناحیه از مغز را تقویت نمایند. در مجموع می‌توان گفت محرومیت از تیمار مادری در دوران شیرخوارگی باعث می‌شود وابستگی موش‌های صحرانی به مورفین زیاد شود، همچنین، باعث تضعیف پتانسیل‌های پس‌سیناپسی میدانی ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ متعاقب مصرف مورفین شده و نیز شکل‌پذیری سیناپسی نورون‌های این ناحیه را مختل می‌کند.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان جهت حمایت مالی از این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

هیپوکامپ ضروری به‌نظر می‌رسد (۱۳). همچنین، در بین گیرنده‌های اپیوئیدی، گیرنده‌های  $\mu$  به فراوانی در ناحیه هیپوکامپ بیان شده (۲۳) و درگیر بودن گیرنده‌های میو اپیوئید ناحیه هیپوکامپ در تغییرات شکل‌پذیری سیناپسی مدارهای ناحیه هیپوکامپ پس از مصرف مورفین نیز اثبات شده است (۲۴)؛ با این همه، نتایج به‌دست آمده از مطالعات مختلف بسیار ضد و نقیض است. از یک طرف بیان شده که تجویز دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین به‌مدت ۷ روز باعث تضعیف شکل‌پذیری سیناپسی در ناحیه CA1 موش صحرانی می‌شود (۱۱) و از طرف دیگر Miladi-Gorji و همکاران نشان داده‌اند مصرف مزمن مورفین باعث افزایش پاسخ‌های پایه و نیز القای LTP در مدارهای ناحیه شکنج دندان‌های می‌شود (۲۵). آنچه در مطالعه حاضر مشاهده شده بی‌تاثیر بودن تجویز مورفین برای مدت ۱۰ روز هم بر دامنه پاسخ‌های پایه ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ و هم بر القای LTP در مدارهای این ناحیه بود، هرچند از پایداری LTP القا شده کاسته شده بود. Salmanzadeh و همکاران نیز نشان داده‌اند که وابستگی به مورفین تأثیری بر اندازه پاسخ‌های پایه ثبت شده از نورون‌های ناحیه CA1 در برش‌های مغزی موش صحرانی نداشته و مانع از القای LTP در آنها نمی‌شود (۲۶).

تفاوت در این نتایج می‌تواند به نوع حیوان مورد مطالعه، محل بررسی شکل‌پذیری سیناپسی، پروتوکال القا کردن LTP (مثل High frequency stimulation, Primed burst stimulation و یا Theta burst stimulation)، فاصله زمانی بررسی شکل‌پذیری سیناپسی و دریافت آخرین دوز مورفین بستگی داشته باشد. LTP افزایش درازمدت در تقویت انتقال سیناپسی است که متعاقب فعالیت سیناپسی با فرکانس بالا ایجاد می‌شود و به‌عنوان یکی از روندهای سلولی مداخله‌کننده در ذخیره حافظه تلقی شده است (۲۷). در بسیاری از انواع شکل‌پذیری سیناپسی، القاء شدن LTP احتیاج به دسته‌ای از گیرنده‌های گلوتامات به‌نام NMDA دارد و بدین سبب به این نوع از تقویت دراز مدت، LTP وابسته به کانال‌های NMDA می‌گویند (۲۸)؛ مطالعات زیادی نشان داده‌اند که LTP القاء شده در مسیر کولترال‌های شافر به CA1 از این نوع است (۲۹). نشان

## An Evaluation of the Effect of Deprivation of Maternal Care on LTP Induction in Neurons of Hippocampal CA1 Region in Morphine-Dependent Rats

F. Aghighi (MSc)<sup>1</sup>, M. Mohammadifar (MSc)<sup>1</sup>, M. Salami (PhD)<sup>2</sup>, Gh. Hamidi (PhD)<sup>3</sup>, S.A. Talaei (PhD)<sup>4\*</sup>

1. Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(10); Oct 2018; PP: 21-27

Received: Feb 11<sup>th</sup> 2018, Revised: May 21<sup>st</sup> 2018, Accepted: May 26<sup>th</sup> 2018.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Deprivation of maternal care as a stressor causes disruption in cognitive and neurochemical activities of the brain. The aim of this study was to evaluation the effect of deprivation of maternal care on LTP induction in neurons of hippocampal CA1 region in morphine-dependent rats.

**METHODS:** This experimental study was conducted among 40 45-day-old male rats in control group, morphine-dependent group, and 3 groups of rats that were deprived of treatment for one, two and three weeks after birth for 3 hours daily. Except for the control group, the rest of the groups received 10 mg/kg body weight morphine sulfate subcutaneously every 12 hours for 10 days. On the eleventh day, the symptoms of deprivation syndrome were investigated by the Gellert-Holtzman method, and on the following day, the synaptic plasticity of neurons in CA1 region was studied.

**FINDINGS:** The Gellert-Holtzman score in the morphine-dependent group was  $14.98 \pm 4.16$  and increased to  $31.79 \pm 5.12$  in the group that was deprived of maternal treatment for 3 weeks ( $p < 0.001$ ). Although morphine dependence did not affect basic responses of CA1 region neurons and LTP induction, deprivation of maternal care reduced the range of basic responses from  $1.01 \pm 0.04$  in the morphine-dependent group to  $0.68 \pm 0.09$  mV in the group that was deprived of maternal care for 3 weeks ( $p < 0.001$ ) and prevented LTP induction ( $p < 0.001$ ) in a time-dependent manner.

**CONCLUSION:** The results of the study showed that deprivation of maternal care undermines the postsynaptic potential of the hippocampal CA1 region following morphine administration and disrupts the synaptic plasticity of the neurons in this region.

**KEYWORDS:** Morphine, Deprivation Of Maternal Care, Long-Term Reinforcement, Hippocampus, Rat. .

### Please cite this article as follows:

Aghighi F, Mohammadifar M, Salami M, Hamidi Gh, Talaei SA. An Evaluation of the Effect of Deprivation of Maternal Care on LTP Induction in Neurons of Hippocampal CA1 Region in Morphine-Dependent Rats. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(8):22-7.

\*Corresponding Author: S.A. Talaei (PhD)

Address: Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R.Iran

Tell: +98 31 5562 1157

E-mail: talaei@kaums.ac.ir

## References

- 1.Oitzl MS, Workel JO, Flutterm M, Frosch F, De Kloet ER. Maternal deprivation affects behaviour from youth to senescence: amplification of individual differences in spatial learning and memory in senescent Brown Norway rats. *Eur J Neurosci*. 2000;12(10):3771-80.
- 2.Liu D, Diorio J, Day JC, Francis DD, Meaney MJ. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nat Neurosci*. 2000;3(8):799-806.
- 3.Hays SL, McPherson RJ, Juul SE, Wallace G, Schindler AG, Chavkin C, et al. Long-term effects of neonatal stress on adult conditioned place preference (CPP) and hippocampal neurogenesis. *Behav Brain Res*. 2012;227(1):7-11.
- 4.Hall FS, Wilkinson LS, Humby T, Robbins TW. Maternal deprivation of neonatal rats produces enduring changes in dopamine function. *Synapse*. 1999;32(1):37-43.
- 5.Lippmann M, Bress A, Nemeroff CB, Plotsky PM, Monteggia LM. Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. *Eur J Neurosci*. 2007;25(10):3091-8.
- 6.Roceri M, Hendriks W, Racagni G, Ellenbroek BA, Riva MA. Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Mol Psychiatry*. 2002;7(6):609-16.
- 7.Kim J, Ham S, Hong H, Moon C, Im HI. Brain Reward Circuits in Morphine Addiction. *Mol Cells*. 2016;39(9):645-53.
- 8.Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci*. 2001;2(2):119-28.
- 9.Bird CM, Burgess N. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. *Nat Rev Neurosci*. 2008;9(3):182-94.
- 10.Li S, Cullen WK, Anwyl R, Rowan MJ. Dopamine-dependent facilitation of LTP induction in hippocampal CA1 by exposure to spatial novelty. *Nature Neuroscience*. 2003;6(5):526-31.
- 11.Zhou M, Luo P, Lu Y, Li CJ, Wang DS, Lu Q, et al. Imbalance of HCN1 and HCN2 expression in hippocampal CA1 area impairs spatial learning and memory in rats with chronic morphine exposure. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2015;56:207-14.
- 12.Zhang Y, Brownstein AJ, Buonora M, Niikura K, Ho A, Correa da Rosa J, et al., Self administration of oxycodone alters synaptic plasticity gene expression in the hippocampus differentially in male adolescent and adult mice. *Neuroscience*. 2015;285:34-46.
- 13.Kenney JW, Gould TJ. Modulation of hippocampus-dependent learning and synaptic plasticity by nicotine. *Mol Neurobiol*. 2008;38(1):101-21.
- 14.Han H, Dong Z, Jia Y, Mao R, Zhou Q, Yang Y, et al. Opioid addiction and withdrawal differentially drive long-term depression of inhibitory synaptic transmission in the hippocampus. *Sci Rep*. 2015;5:9666.
- 15.Dalaveri F, Nakhaee N, Esmailpour K, Mahani SE, Sheibani V. Effects of maternal separation on nicotine-induced conditioned place preference and subsequent learning and memory in adolescent female rats. *Neurosci Lett*. 2017;639:151-6.
- 16.Yang L, Pan Z, Zhou L, Lin S, Wu K. Continuously changed genes during postnatal periods in rat visual cortex. *Neurosci Lett*. 2009;462(2):162-5.
- 17.Calabrese E, Badea A, Watson C, Johnson GA. A quantitative magnetic resonance histology atlas of postnatal rat brain development with regional estimates of growth and variability. *NeuroImage*. 2013;71(Supplement C):196-206.
- 18.Miladi-Gorji H, Rashidy-Pour A, Fathollahi Y, Akhavan MM, Semnani S, Safari M. Voluntary exercise ameliorates cognitive deficits in morphine dependent rats: the role of hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *Neurobiol Learn Mem*. 2011;96(3):479-91.
- 19.Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 6th ed. 2007: Academic Press.

20. Talaei SA, Azami A, Salami M. Postnatal development and sensory experience synergistically underlie the excitatory/inhibitory features of hippocampal neural circuits: Glutamatergic and GABAergic neurotransmission. *Neuroscience*. 2016;318:230-43.
21. Salami M, Talaei SA, Davari S, Taghizadeh M. Hippocampal long term potentiation in rats under different regimens of vitamin D: An in vivo study. *Neurosci Lett*. 2012;509(1):56-9.
22. Lu L, Shepard JD, Scott Hall F, Shaham Y. Effect of environmental stressors on opiate and psychostimulant reinforcement, reinstatement and discrimination in rats: a review. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003;27(5):457-91.
23. Li Z, Wu CF, Pei G, Xu NJ. Reversal of morphine-induced memory impairment in mice by withdrawal in Morris water maze: Possible involvement of cholinergic system. *Pharmacol Biochem Behav*. 2001;68(3):507-13.
24. Bao G, Kang L, Li H, Li Y, Pu L, Xia P, et al. Morphine and heroin differentially modulate in vivo hippocampal LTP in opiate-dependent rat. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32(8):1738-49.
25. Miladi-Gorji H, Rashidy-Pour A, Fathollahi Y, Semnani S, Jadidi M. Effects of voluntary exercise on hippocampal long-term potentiation in morphine-dependent rats. *Neuroscience*. 2014;256:83-90.
26. Salmanzadeh F, Fathollahi Y, Semnani S, Shafizadeh M. Dependence on morphine impairs the induction of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampal slices. *Brain Res*. 2003;965(1-2):108-13.
27. Kerchner GA, Nicoll RA. Silent synapses and the emergence of a postsynaptic mechanism for LTP. *Nat Rev Neurosci*. 2008;9(11):813-25.
28. Molnár E. Long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. *Semin Cell Dev Biol*. 2011;22(5):506-13.
29. Ireland DR, Abraham WC. Mechanisms of Group I mGluR-Dependent Long-term Depression of NMDA Receptor-Mediated Transmission at Schaffer Collateral-CA1 Synapses. *J Neurophysiol*. 2008; 101(3):1375-85.
30. Sousa VC, Vital J, Costenla AR, Batalha VL, Sebastião AM, Ribeiro JA, et al. Maternal separation impairs long term-potentiation in CA1-CA3 synapses and hippocampal-dependent memory in old rats. *Neurobiol Aging*. 2014;35(7):1680-5.
31. Cao X, Huang S, Cao J, Chen T, Zhu P, Zhu R, et al. The timing of maternal separation affects morris water maze performance and long-term potentiation in male rats. *Dev Psychobiol*. 2014;56(5):1102-9.
32. Shin SY, Han SH, Woo RS, Jang SH, Min SS. Adolescent mice show anxiety- and aggressive-like behavior and the reduction of long-term potentiation in mossy fiber-CA3 synapses after neonatal maternal separation. *Neuroscience*. 2016;316:221-31.